

Octrooiraad



Nederland

12 A Terinzagelegging 11 8901258

19 NL

- 54 5-Halogeno-2',3'-dideoxycytidinederivaten in geneesmiddelen voor het behandelen van retrovirus-infecties.
- 51 Int.Cl.: C07H 19/06, A61K 31/70.
- 71 Aanvrager: Stichting Rega V.Z.W. te Leuven, België.
- 74 Gem.: Ir. R. Hoijtink c.s.
Octrooibureau Arnold & Siedsma
Sweelinckplein 1
2517 CK 's-Gravenhage.

- 21 Aanvraag Nr. 8901258.
- 22 Ingediend 19 mei 1989.
- 32 ..
- 33 ..
- 31 ..
- 52 ..

- 43 Ter inzage gelegd 17 december 1990.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

S-Halogeno-2',3'-dideoxycytidinederivaten in geneesmiddelen
voor het behandelen van retrovirus-infecties.

De uitvinding betreft nieuwe dideoxycytidine derivaten en hun toepassing in een therapeutisch middel voor het behandelen van retrovirus-infecties zoals AIDS en met AIDS verwante ziekten.

- 5 AIDS of verworven immunodeficientiesyndroom is een pandemische immunosuppressieve ziekte, die het gevolg is van een uitputting aan helper T-lymfocyt cellen in het menselijk lichaam. De veroorzaker is geïdentificeerd als een retrovirus en wordt "humaan immunodeficiëntievirus" oftewel HIV ge-
10 noemd. Op het moment zijn twee verschillende typen (HIV-1 en HIV-2) van dat retrovirus beschreven; beide typen kunnen AIDS of met AIDS-verwante ziekten opwekken, ofschoon HIV-1 wijder verspreid is dan HIV-2.

Vele pogingen tot het vinden van geschikte anti-HIV
15 middelen zijn reeds in het werk gesteld en van vele stoffen en verbindingen is gerapporteerd dat zij de replicatie van HIV (doorgaans type 1) in vitro tegengaan. Voor een overzicht zie E. De Clercq, Anticancer Res., 7, 1023-1038 (1987).

Onder de voorgestelde anti-HIV verbindingen is
20 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (azidothymidine of AZT) op het moment de enige verbinding die klinisch bruikbaar is gebleken bij het behandelen van AIDS-patiënten, vergelijk Fischl et al, New Engl. J. Med. 317, 185-191 (1987).

Bij proeven in vitro is naast 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine ook 3'-fluor-2',3'-dideoxythymidine een krachtige inhibitor van de HIV-replicatie gebleken, vergelijk Balzarini et al, Biochemical Pharmacology, 37, 2847-2856
25 (1988). Verder vindt men een krachtige anti-HIV werking bij 5-chloor-3'-azido- en 5-chloor-3'-fluor-derivaten van 2',3'-
30 dideoxyuridine, vergelijk Balzarini et al, Biochemical Pharm., 38, 869-894 (1989).

222 258.

In de cytidinereeks blijkt 2',3'-dideoxycytidine een krachtige anti-HIV inhibitor te zijn, evenals het 2',3'-didehydroderivaat daarvan, terwijl de 3'-azido- en 3'-fluor-derivaten daarvan minder krachtig werkzaam zijn, vergelijk 5 Balzarini et al, l.c., 1988.

Bij voortgezet onderzoek is thans gevonden dat 5-halogeno-3'-azido-, 5-halogeno-3'-fluor- en 5-halogeno-2',3'-didehydro-derivaten van 2',3'-dideoxycytidine een krachtige en selectieve anti-HIV werking hebben, welke met 10 die van 2',3'-dideoxycytidine vergelijkbaar is. Dit betekent dat de genoemde verbindi-gen met voordeel kunnen worden gebruikt in farmaceutische preparaten tegen AIDS en met AIDS verwante ziekten, en in het algemeen in farmaceutische prepa-raten tegen retrovirus-infecties met inbegrip van hepatitis 15 B.

De 5-halogeno-3'-azido-, 5-halogeno-3'-fluor- en 5-halogeno-2',3'-didehydro-derivaten van 2',3'-dideoxycytidi- ne zijn nieuwe stoffen die langs elke gebruikelijke route voor nucleoside-analogen kunnen worden gesynthetiseerd. Bij 20 voorkeur wordt eerst een corresponderend 2',3'-dideoxyuridi-nederivaat gemaakt, dat dan met een bekende methode in een 2',3'-dideoxycytidine derivaat wordt omgezet. Het halogeen-atoom op de 5-plaats wordt bij voorkeur eerst ingevoerd als de substituent op de 3'-plaats reeds aanwezig is.

25 Opgemerkt wordt dat onder "halogeno" zowel chloro, bromo, iodo als fluoro wordt verstaan. Momenteel geniet chloro de voorkeur.

Thans volgen enkele voorbeelden voor de synthese van de stoffen volgens de uitvinding.

30 Synthese voorbeeld 1

5-chloro-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine.

2,6 g (4,95 mmol) 5'-O-monomethoxytrityl-3'-azido-2',3'-dide- oxyuridine werd omgezet met 1,0 g (7,5 mmol) N-chloorsuccini- mide in 100 ml pyridine. Door opwerken en chromatografische 35 zuivering werd 2,52 g (4,5 mmol, 91%) van een lichtbruin schuim verkregen, dat tezamen met watervrij pyridine werd

390:258.

Worthy-destroying
for each out -

verdampt en opgelost in 50 ml dichloorethaan-pyridine (5:1). Aan de gekoelde oplossing (0°C) werd in 20 minuten 20 ml 10% 's oplossing van trifluormethaansulfonzuuranhydride in 1,2-dichloorethaan toegedruppeld. Na drie uren bij kamertem-
 5 peratuur was blijkens TLC (CHCl₃-MeOH 95:5) het uitgangsmate-
 riaal volledig omgezet. Het mengsel werd in 200 ml met ammo-
 niak verzadigde methanol gegoten. De oplossing werd een nacht
 bij kamertemperatuur doorgeroerd, waarop blijkens TLC naast
 het uitgangsmateriaal een nieuw produkt in nagenoeg gelijke
 10 hoeveelheden aanwezig was. Na concentratie werd het residu
 opgelost in ethylacetaat en gewassen met water en met pekel.
 De organische laag werd gedroogd, drooggedampt en gezuiverd
 waardoor 1,00 g (1,78 mmol, 40%) teruggewonnen 5-chloro-5'-
 O-monomethoxytrityl-3'-azido-2',3'-dideoxyuridine en 1,26 g
 15 (2,25 mmol, 50%) 5-chloro-5'-O-monomethoxytrityl-3'-azido-
 2',3'-dideoxycytidine als schuim werd verkregen. UV (MeOH)
 λ_{\max} 288 nm. Dit schuim werd 30 minuten bij 60°C behandeld
 met 100 ml 80% 's azijnzuur. Na adsorptie op silicagel werd
 het mengsel gezuiverd (CHCl₃ tot CHCl₃-MeOH 94:6) waardoor
 20 380 mg (1,32 mmol) van een lichtgeel schuim werd verkregen
 dat kristalliseerde uit MeOH-diethylether. Opbrengst 221 mg
 (0,77 mmol, 34%), *mp.*: 173-175°C (*dec.*).

UV (MeOH) λ_{\max} 284 nm ($\epsilon = 1000$), λ_{\min} 264 nm.

25 IR: ν_{\max} 2860 (s, H), 1470 (s, C-H), 1450 (100, C-H), 1410 (9, S), 1100 (37,
 B+H-Cl).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 7.34 (d, 4-H', H-3'), 3.67 (m, H-5', H-5''), 3.86 (m,
 H-3'), 4.37 (c, J = 5.5 Hz, H-4'), 5.32 (br, 5'-OH), 6.03 (t, J = 5 Hz,
 H-1'), 7.20 (br) and 7.83 (br) (NH₂), 8.20 (s, H-6) ppm.

30 ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ : 37.3 (C-2'), 50.5 (C-3'), 50.4 (C-5'), 84.5 and 85.7
 (C-1', C-4'), 99.2 (C-5), 139.2 (C-6), 153.6 (C-2), 161.5 (C-4) ppm.

Anal. (C₉H₁₁ClN₂O₃) C, H, N.

Synthese voorbeeld 2

5-chloro-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine

760 mg (2,47 mmol) 5-chloro-5'-O-acetyl-3'-fluor-2',3'-dide-

6904256.

oxyuridine werd opgelost in 24 ml dichloorethaan-pyridine (5:1) en gekoeld in een ijs-zoutbad. In 10 minuten werd 10 ml 10% 's oplossing van trifluormethaansulfonzuur anhydride in dichloorethaan toegedruppeld, waarna het mengsel 3 uren bij 5 omgevingstemperatuur werd doorgeroerd. Blijkens TLC (CHCl₃-MeOH 95:5) was het uitgangsmateriaal volledig omgezet. De inhoud werd uitgegoten in 100 ml met ammoniak verzadigde methanol en 15 uren doorgeroerd. Daarna waren blijkens TLC (CHCl₃-MeOH 9:1) twee nucleosidische produkten aanwezig waar-
10 van het snelst bewegende produkt gezamenlijk migreerde met het gedeacyleerde uitgangsmateriaal. Door Flits-chromatografische zuivering (CHCl₃-MeOH 97:3 tot 9:1) werd 286 mg (1,08 mmol, 43%) 5-chloro-3'-fluor-2',3'-dideoxyuridine teruggewonnen en 600 mg onzuiver bruin schuim verkregen. Na intensieve zuive-
15 ring werd 148 mg (0,46 mmol, 22%) van de titelverbinding geïsoleerd als een wit schuim dat kristalliseerde uit MeOH-aceton. Smp.: 179-180°C.

UV (MeOH) λ_{max} 268 nm (ϵ = 5700), λ_{min} 285 nm.
20 MS, m/z 265 (15, M), 146 (34, B-2H), 145 (100, B+H), 119 (13, S), 110 (30, B+H-Cl).
¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 1.90-1.95 (s, H-2', H-3', partially hidden by DMSO), 3.63 (d, J = 3.5 Hz, H-5', H-5''), 4.20 (dt, J = 3.5 Hz, J_{4,5}F = 27.3 Hz, H-4'), 5.22 (dd, J'-OH), 5.39 (dd, J = 5.7 and 8.5 Hz, H-1'), 7.25 (br) and 7.39 (br) (NH₂), 8.11 (s, H-6) ppm.
25 ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ : 38.3 (J = 20 Hz, C-2'), 60.9 (J = 11 Hz, C-5'), 65.2 (J = 27.3 Hz, C-4'), 85.5 (C-1'), 95.0 (J = 171.3 Hz, C-3'), 99.4 (C-5), 139.1 (C-6), 155.5 (C-2), 161.4 (C-4) ppm.
Anal. (C₉H₁₁ClFN₃O₃) C, H, N.
30

Synthesevoorbeeld 3

5-chloro-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.
1,46 g (5,46 mmol) 5'-O-propionyl-2',3'-didehydro-2',3'-dide-
35 oxyuridine werd in een opbrengst van 81% omgezet tot 5'-O-propionyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine met behulp van triazool en O-chloorphenyl dichloorfosfaat, volgens de

8801219

methode van Sung voor omzetting van uridine- tot cytidine derivaten. Vergelijk W.L. Sung, J. Org. Chem. 47, 3623-3628 (1982).

UV (MeOH) λ_{\max} 271 en 237 nm.

- 5 Reactie met benzoëzuuranhydride in watervrij pyridine gaf het N-gebenzoyleerde produkt in 93% opbrengst. UV (MeOH) λ_{\max} 261 en 304 nm.

Het beschermde nucleoside-analoog werd in pyridine 30 minuten bij 100°C behandeld met 1,5 equivalenten N-chloro-10 succinimide. Intensieve opwerking leverde 38% van het 5-chloorprodukt naast 21% teruggewonnen materiaal.

UV (MeOH) λ_{\max} 261 en 331 nm.

- Deprotectie met methanol, verzadigd met ammoniak, leverde tenslotte 62% van het titelprodukt dat kristalliseer-15 de uit methanol-diethylether. Smp.: 144-145°C.

UV (MeOH) λ_{\max} 268 nm (ϵ 4500), λ_{\min} 267 nm.

MS, m/z 243 (2, M⁺), 143 (100, 5 - H⁺), 110 (100, 8+H-Cl), 98 (45, 5-H).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 5.13 (d, J = 2.6 Hz after exchange with D₂O, H-5'),

- 20 H-5''), 4.81 (m, H-4'), 4.07 (t, J = 5 Hz, 5'-OH), 5.91 (dm, J_{2',3'} = 5.7 Hz, H-3'), 6.34 (dm, J_{2',3'} = 5.7 Hz, H-2'), 6.84 (m, H-1'), 7.21 (br) and 7.81 (br) (NH₂), 3.14 (s, H-6) ppm.

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ : 61.5 (C-5'), 57.4 (C-4'), 90.2 (C-1'), 99.0 (C-3'),

126.7 (C-3''), 134.1 (C-2'), 140.1 (C-5), 153.9 (C-2), 161.5 (C-4) ppm.

Anal. (C₉H₁₀ClN₃O₃) C, H, N.

25

Bij proeven die tot de uitvinding leidden, werd gevonden dat de verbindingen uit de synthesevoorbeelden 1, 2 en 3 in staat zijn de cytopathogeniciteit van HIV-1 in MT-4 cellen te remmen in een 50% effectieve dosis (ED₅₀) van

- 30 resp. 9 μ M, 14 μ M en 15 μ M. Ze zijn nagenoeg even actief tegen de replicatie van HIV-2. Bovendien zijn de verbindingen van synthesevoorbeeld 1 en 2 nauwelijks giftig voor de MT-4 cellen, zodat zij een hoge selectiviteitsindex hebben, evengoed of zelfs beter dan die van 2',3'-dideoxycytidine.

- 35 Bij onderzoek naar het vermogen om de door Moloney murine sarcoma virus (MSV) opgewekte transformatie van murine C3H/3T3 fibroblasten tegen te gaan, bleek geen van de deriva-

09/17/96

ten uit de synthesevoorbeelden enige antivirale aktiviteit te vertonen bij concentraties tot 1000µM. Dit in tegenstelling tot azidothymidine dat een doeltreffende inhibitor van het MSV is (ED₅₀=0,027µM) en tot 2',3'-dideoxycytidine dat een ED₅₀ van 10µM heeft. Niettemin wordt aangenomen dat de genoemde derivaten voldoende antivirale activiteit hebben tegen menselijke retrovirussen die menselijke cellen infecteren.

Op grond van deze gegevens zijn de genoemde verbindingen bruikbaar in geneesmiddelen tegen AIDS en met AIDS verwante ziekten en in het algemeen in geneesmiddelen tegen retrovirusinfecties met inbegrip van hepatitis B.

Therapeutische preparaten die de verbindingen volgens de uitvinding als actief bestanddeel voor het behandelen van retrovirusinfecties zoals AIDS of met AIDS verwante ziekten in de humane praktijk bevatten, kunnen de vorm hebben van poeders, suspensies, oplossingen, sprays, emulsies, zalven of crèmes en kunnen worden gebruikt voor locale toediening voor intranasale, rectale, vaginale en ook voor orale of parenterale (intraveneuze, intradermale, intramusculaire, intrathecale etc.) toediening. Dergelijke preparaten kunnen worden bereid door de actieve verbindingen te combineren (bijv. door mengen, oplossen etc.) met pharmaceutisch aanvaardbare excipientia van neutrale aard (zoals waterige of niet-waterige oplosmiddelen, stabilisatoren, emulgatoren, detergentia, additieven) en verder desgewenst met kleur- en geurstoffen. De concentratie van het actieve bestanddeel in het therapeutische preparaat kan sterk variëren tussen 0,1% en 100% afhankelijk van de wijze van toediening. Verder kan de dosis van het toe te dienen actieve bestanddeel variëren tussen 0,1 mg en 100 mg per kilogram lichaamsgewicht.

De anti-HIV eigenschappen van de 5-halogeno-2',3'-dideoxycytidinederivaten volgens de uitvinding worden gedocumenteerd door de volgende voorbeelden die niet in beperkende zin dienen te worden gelezen. Daarin worden 2',3'-dideoxycytidine en 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine ter vergelijking gebruikt.

890 258

De in de voorbeelden gebruikte virussen waren HIV-1 en HIV-2, resp. verkregen uit de kweekvloei-
stof van aanhoudend met HIV-1 geïnfecteerde H9 cellen en uit de kweekvloei-
stof van aanhoudend met HIV-2 geïnfecteerde CEM cellen. Ver-
5 der werd gebruik gemaakt van Moloney murine sarcoma virus
(MSV), bereid uit tumoren die opgewekt waren door infectie in
vivo van drie dagen oude NMRI-muizen (vergelijk De Clercq et
al, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137, 590-594, 1971).

De in de voorbeelden gebruikte cellen waren MT-4
10 cellen zoals beschreven door I. Miyoshi et al, Gann Monogr.
28, 219-218 (1982). Deze cellen werden gekweekt in een cul-
tuurmedium bestaande uit RPMI-1640 medium, gesupplementeerd
met 20 mM Hepes buffer, 10% (v/v) geïnaktiveerd foetaal kal-
verserum en 2 mM glutamine. Dit RPMI-1640 medium is een
15 standaardmedium dat anorganische zouten zoals NaCl, NaHCO₃,
Na₂HPO₄ etc., alsmede glucose, diverse aminozuren en diverse
vitaminen bevat.

Vijf verschillende stoffen werden als testverbin-
dingen gebruikt, nl:

- 20 AzddClCyd: 5-chloro-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine,
FddClCyd: 5-chloro-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine,
Chlorine D4ClC: 5-chloro-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine,
ddCyd: 2',3'-dideoxycytidine,
AzddThd: 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine.

25

Voorbeeld 1

Remming van de cytopathogene werking van HIV-1.

De testverbindingen werden gewaardeerd op hun rem-
mend effect op de cytopathogene werking van HIV-1 in MT-4
30 cellen.

In een eerste reeks proeven werden MT-4 cellen
(5x10⁵ cellen/ml) gesuspendeerd in een vers kweekmedium
bestaande uit RPMI-1640 medium met naast de genoemde toevoe-
gingen nog 0,075% (w/v) NaHCO₃, 2,5 µg/ml Fungizone (Squibb
35 N.V.). De suspensie werd geïnfecteerd met 200 CCID₅₀ aan
HIV-1 per mm celsuspensie (1 CCID₅₀ is de infectieve dosis
voor 50% van de celkweek). Onmiddellijk na het infecteren

88 0' 258 .

werden 100 µl porties van de celsuspensie in de holtes van een testplaat samengebracht met 100 µl porties van geschikte verdunningen van de testverbindingen. Elke holte van 200 µl bevatte zodoende 20 CCID₅₀ aan HIV en 5x10⁴ MT-4 cellen. Na vijf dagen incuberen bij 37°C in een vochtige atmosfeer met beheersing van het CO₂-gehalte werd het aantal levensvatbare cellen geteld.

Een tweede reeks proeven, parallel aan de eerste, werd uitgevoerd met niet-geïnfecteerde celculturen, die in tegenwoordigheid van verschillende concentraties van de testverbindingen werden geïncubeerd. Ook hier werd na afloop het aantal levensvatbare cellen geteld. Uit de gevonden waarden werden de 50% effectieve dosis (ED₅₀) en de 50% cytotoxische dosis (CD₅₀) berekend, dat wil zeggen de concentraties aan testverbinding die nodig waren om het aantal levensvatbare cellen in de met virus geïnfecteerde, resp. de niet-geïnfecteerde celkweken met 50% te verminderen.

De resultaten zijn weergegeven in tabel 1.

20 Verbinding	ED ₅₀	CD ₅₀
AzddClCyd	9	923
FddClCyd	14	1000
D4ClC	15	170
25 ddCyd	0,27	39
AzddThd	0,002	5,2

Uit de tabel blijkt dat de drie verbindingen uit de synthesevoorbeelden 1-3 een waarde voor ED₅₀ van resp. 9µM, 14µM en 15µM hebben. Twee van de drie verbindingen hebben bovendien een uiterst geringe giftigheid (hoge waarde van CD₅₀) zodat hun therapeutische index even groot als die van ddCyd of zelfs beter zal zijn.

Proeven met HIV-2 gaven een zelfde beeld te zien.

SSC 1156.7

Voorbeeld 2

Effect van diverse toevoegingen op de anti-HIV werking.

De proeven van voorbeeld 1 werden herhaald in tegenwoordigheid van diverse toevoegingen, waarna het effect van deze toevoegingen werd bepaald.

5 In een eerste reeks proeven werden MT-4 cellen (10^6 cellen per ml) gesuspenseerd in een vers kweekmedium zoals genoemd in voorbeeld 1. De suspensie werd geïnfecteerd met 200 CCID₅₀ aan HIV-1 per ml celsuspensie. Daarna werden 50µl porties van de geïnfecteerde celsuspensie in de holtes van
10 een testplaat samengebracht met 100µl porties van een geschikte verdunning van een testverbinding en 50µl porties van een medium dat bepaalde toevoegingen bevatte. Na vijf dagen incuberen bij 37°C in een vochtige atmosfeer met beheersing van het CO₂-gehalte werd het aantal levensvatbare
15 cellen geteld.

Een tweede reeks proeven, parallel aan de eerste, werd uitgevoerd met niet-geïnfecteerde celculturen, ook hier werd na afloop het aantal levensvatbare cellen geteld. Uit de gevonden waarden werden de waarden van ED₅₀ en CD₅₀ berekend,
20 op dezelfde wijze als in voorbeeld 1.

De gebruikte toevoegingen waren:

dCyd	2'-deoxycytidine
dThd	2'-deoxythymidine
THU	tetrahydrouridine
25 dTHU	2'-deoxytetrahydrouridine

De resultaten, tezamen met die van voorbeeld 1, zijn in Tabel 2 vermeld.

8801200.

Tabel 2

verbinding	Toevoeging	ED50 (μ M)	CD50 (μ M)
AzddClCyd	Geen	9	923
	dCyd (1 mM)	> 500	> 500
	dThd (250 μ M) + dCyd (1 mM)	≥ 500	> 500
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 mg/ml)	≥ 500	> 500
	dCyd (1 mM) + THU (250 μ g/ml) +	> 500	> 500
	+dTHU (250 μ g/ml)		
FddClCyd	Geen	14	> 1000
	dCyd (1 mM)	> 500	> 500
	dThd (250 μ M) + dCyd (1 mM)	249	> 500
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	248	> 500
	dCyd (1 mM) + THU (250 μ g/ml) +	> 500	> 500
	dTHU (250 μ g/ml)		
D4ClC	Geen	15	170
	dCyd (1 mM)	> 100	223
	dThd (250 μ M) + dCyd (1 mM)	> 100	211
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	> 100	220
	dCyd (1 mM) + THU (250 μ g/ml) +	> 100	213
	dTHU (250 μ g/ml)		
ddCyd	Geen	0,27	39
	dCyd (1 mM)	56	> 500
	dThd (250 μ M) + dCyd (1 mM)	14	> 500
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	14	> 500
	dCyd (1 mM) + THU (250 μ g/ml) +	424	> 500
	dTHU (250 μ g/ml)		
AzddThd	Geen	0,002	5,2
	dCyd (1 mM)	0,07	>>100
	dThd (250 μ M) + dCyd (1 mM)	0,7	>>100
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	0,002	4,3
	dCyd (1 mM) + THU (250 μ g/ml) +	0,002	40
	dTHU (250 μ g/ml)		

22001288.

Uit tabel 2 blijkt dat de toevoeging van 1000 μ M dCyd resulteerde in een duidelijke teruggang van de anti-HIV activiteit van de verbindingen uit de synthesevoorbeelden 1-3. Een soortgelijke teruggang trad ook op bij toevoeging 5 van THU + dTHU en van dCyd+THU-dTHU.

In dit opzicht waren de verbindingen van de synthesevoorbeelden vergelijkbaar met ddCyd oftewel 2',3'-dideoxycytidine. Daarentegen zijn de resultaten niet vergelijkbaar met die van azidothymidine, waar een toevoeging van dCyd of 10 van dCyd + dThd wel een teruggang in anti-HIV activiteit tengevolge heeft, maar een toevoeging van THU+dTHU, of van THU+dTHU+dCyd geen effect heeft.

Verder blijkt dat de cytostatische activiteit van de verbindingen uit de synthesevoorbeelden 1 en 2 door de 15 toevoegingen aanzienlijk worden verminderd, evenals bij 2',3'-dideoxycytidine, terwijl de verbinding van synthesevoorbeeld 3 hier een afwijkend gedrag vertoont.

Voorbeeld 3

20 Remming van Moloney murine sarcoma virus (MSV).

De testverbindingen werden gewaardeerd op hun remmend effect op de transformatie van C3H muizenembryofibroblasten door Moloney murine sarcoma virus (MSV).

C3H cellen werden in een dosis van 20000 cellen per 25 ml in de holtes van een testplaat met 48 holtes gebracht. Na 24 uren werden de celkweken geïnfecteerd met 80 focusvormende eenheden MSV en 120 minuten later werd het kweekmedium vervangen door 1 ml vers medium dat uiteenlopende concentraties van testverbindingen bevatte. Na zes dagen werd de transfor- 30 matie van de celkweken microscopisch waargenomen.

Uit de proeven bleek dat geen van de verbindingen uit de synthesevoorbeelden 1-3 enige antivirale werking bij concentraties tot 1000 μ M vertoonde. Daarentegen werd de transformatie door AzddThd doeltreffend geremd ($ED_{50}=0,027\mu$ M) 35 terwijl ddCyd een ED_{50} van 10 μ M vertoonde.

5807218.

CONCLUSIES

1. Verbinding gekozen uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.
5. 2. 5-chloro-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine.
3. 5-chloro-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine.
4. 5-chloro-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.
5. Farmaceutisch preparaat ten gebruike bij het behandelen van retrovirusinfecties, welk preparaat een ver-
10 binding uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine als actief bestanddeel bevat.
6. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 5,
15 welk preparaat het actieve bestanddeel in een concentratie tussen ca. 0,1 en ca. 100 gewichts% bevat.
7. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 5, welk preparaat de vorm heeft van een poeder, suspensie, oplossing, spray, emulsie, zalf of crème.
- 20 8. Farmaceutisch preparaat ten gebruike bij het behandelen van AIDS of met AIDS verwante ziekten welk preparaat een verbinding uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine
25 als actief bestanddeel bevat.
9. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 8, welk preparaat het actieve bestanddeel in een concentratie tussen ca. 0,1 en ca. 100 gewichts% bevat.
10. Farmaceutisch preparaat volgens conclusie 8,
30 welk preparaat de vorm heeft van een poeder, suspensie, oplossing, spray, emulsie, zalf of crème.
11. Werkwijze voor het behandelen van retrovirusinfecties, welke hierin bestaat dat men een verbinding uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine toedient aan een patient lijdende
35 aan een retrovirusinfectie.

89 01: P6:

12. Werkwijze voor het behandelen van AIDS of een met AIDS verwante ziekte, welke hierin bestaat dat men een verbinding uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine toedient aan een patient lijdende aan AIDS of een met AIDS verwante ziekte.

13. Toepassing van een verbinding gekozen uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine voor het bereiden van een farmaceutisch preparaat tegen retrovirusinfekties en hepatitis B.

14. Toepassing van een verbinding, gekozen uit de groep van 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluor-2',3'-dideoxycytidine en 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine voor het bereiden van een farmaceutisch preparaat tegen AIDS en met AIDS verwante ziekten.

8801210.

KILPATRICK & CODY, L.L.P.

*1100 Peachtree Street
Atlanta, Georgia 30309-4530
Direct Dial 404 815-6563*

MEMORANDUM

TO: Sherry Knowles

FROM: Odessa Roberts *OR*

DATE: September 27, 1996

RE: English Translation of Netherlands Patent No. 8901258
EMU133 E2690/084065

As requested, attached is the English translation of the above-identified patent document. A copy of this document is being sent to the above-identified file.

Patent Board of The Netherlands

12A Deposit for Inspection 11 8901258

19 NL

54 5-Halogeno-2',3'-dideoxycytidine derivatives in medications for the treatment of retrovirus infections.

51 Int. Cl⁵.: C07H 19/06, A61K31/70

71 Applicant: Stichting Rega V.Z.W. in Louvain, Belgium

74 Agent: Ir. R. Hoijtink o.s.
Octrooibureau Arnold & Siedsma
Sweelinckplein 1
2517 CK The Hague

21 Application no. 8901258

22 Submitted 19 May 1989

43 Deposited for inspection 17 December 1990

The documents attached to this sheet are a copy of the originally submitted description with claim(s) and any drawing(s).

B Br/GT/28-REGA

5-Halogeno-2',3'-dideoxycytidine derivatives in medications for the treatment of retrovirus infections.

The invention concerns new dideoxycytidine derivatives and their application in a therapeutic agent for the treatment of retrovirus infections such as AIDS and AIDS-related diseases.

AIDS, or acquired immune deficiency syndrome, is a pandemic immunosuppressive disease, which is the result of an exhaustion of helper T-lymphocyte cells in the human body. The cause has been identified as a retrovirus and is called "human immunodeficiency virus," or HIV. At this moment, two types (HIV-1 and HIV-2) of that virus have been described; both types can cause AIDS or AIDS-related diseases, although HIV-1 is more widely distributed than HIV-2.

Many efforts to find suitable anti-HIV agents have already been put to work, and it has been reported that many chemicals and compounds counter the replication of HIV (generally type 1) in vitro. For an overview, see E. de Clercq, *Anticancer res.*, 7, 1023-1038 (1987).

Among the proposed anti-HIV compounds 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (azidothymidine or AZT) is at the moment the only compound which has proven clinically usable in the treatment of AIDS patients, compare Fischl et al, *New England J. Med.* 317, 185-191 (1987).

In tests in vitro, in addition to 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine, 3'-fluoro-2',3'-dideoxythymidine has proven to be a powerful inhibitor of HIV replication, compare Balzarini et al, *Biochemical Pharmacology*, 37, 2847-2856 (1988). Further, one finds powerful anti-HIV action with 5-chloro-3'-azido- and 5-chloro-3'-fluoro derivatives of 2',3'-dideoxyuridine, compare Balzarini et al, *Biochemical Pharm.*, 38, 869-894 (1989).

In the cytidine series, 2',3'-dideoxycytidine appears to be a powerful anti-HIV inhibitor, as well as the 2',3'-didehydro derivative thereof, while the 3'-azido and 3'-fluoro derivatives thereof are less powerfully active, compare Balzarini et al., *l.c.*, 1988.

In advanced investigation, it has now been found that 5-halogeno-3'-azido, 5-halogeno-3'-fluoro, and 5-halogeno-2',3'-didehydro derivatives of 2',3'-dideoxycytidine have a powerful and selective anti-HIV action, which is comparable to that of 2',3'-dideoxycytidine. This means that the said compounds can be used advantageously in pharmaceutical preparations against retrovirus infections including hepatitis B.

The 5-halogeno-3'-azido, 5-halogeno-3'-fluoro, and 5-halogeno-2',3'-didehydro derivatives of 2',3'-dideoxycytidine are new chemicals which can be synthesized via every usual route for nucleoside analogs. Preferably, a corresponding 2',3'-dideoxyuridine derivative is first made, which is converted to a 2',3'-dideoxycytidine derivative by a known method. The halogen atom in the 5-position is preferably only introduced when the substituent in the 3'-position is already present.

It is noted that by "halogeno," chloro, bromo, iodo, and fluoro are understood.

Several examples follow for the synthesis of the chemicals according to the invention.

Synthesis example 1

5-chloro-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine.

2.6 g (4.95 mmol) 5'-O-monomethoxytrityl-3'-azido-2',3'-dideoxyuridine was converted with 1.0 g (7.5 mmol) N-chlorosuccinimide in 100 ml of pyridine. By refining and chromatographic purification, 2.52 g (4.5 mmol, 91%) of a light brown foam was obtained, which together with anhydrous pyridine was

Page 3/

vaporized and dissolved in 50 ml of dichloroethane-pyridine (5:1). In 20 minutes, 20 ml of 10% solution of trifluoromethane sulphonic acid anhydride in 1,2-dichloroethane was dripped into the cooled solution (0°C). After three hours at room temperature, according to TLC (CHCl₃-MeOH 95:5), the basic material was completely converted. The mixture was poured into 200 ml methanol saturated with ammonia. The solution was stirred one night at room temperature, after which according to TLC in addition to the basic material a new product was present in almost equal quantities. After concentration, the residue was dissolved in ethyl acetate and washed with water and with brine. The organic layer was dried, evaporated dry and purified, whereby 1.00 g (1.78 mmol, 40%) reclaimed 5-chloro-5'-O-monomethoxytrityl-3'-azido-2',3'-dideoxyuridine and 1.26 g (2.25 mmol, 50%) 5-chloro-5'-O-monomethoxytrityl-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine was obtained as foam. UV (MeOH) λ_{\max} 288 nm. After 30 minutes, this foam was treated at 60°C with 100 ml 80% acetic acid. After adsorption on silica gel, the mixture was purified (CHCl₃ to CHCl₃-MeOH 94:6) whereby 380 mg (1.32 mmol) of a light brown foam was obtained which crystallized out of MeOH diethyl ether. Yield 221 mg (0.77 mmol, 34%), smp.: 173-175°C (dec).

[nine illegible lines of formula]

Synthesis example 2

5-chloro-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine

760 mg (2.47 mmol) 5'-chloro-5'-O-acetyl-3'-fluoro-2',3'-dideoxyuridine

was dissolved in 24 ml of dichloroethane-pyridine (5:1) and cooled in an ice salt bath. In 10 minutes, 10 ml of 10% solution of trifluoromethane sulphonic acid anhydride was dripped into dichloroethane, after which the mixture was stirred for 3 hours at ambient temperature. According to TLC (CHCl₃-MeOH 95:5), the basic material was completely converted. The contents were poured into 100 ml methanol saturated with ammonia and stirred for 15 hours. Afterwards, according to TLC (CHCl₃-MeOH 9:1), two nucleosidic products were present, of which the fastest moving product migrated with the deacylated basic material. By flash chromatographic purification (CHCl₃-MeOH 97:3 to 9:1), 286 mg (1.08 mmol, 43%) of 5-chloro-3'-fluoro-2',3'-dideoxyuridine was reclaimed and 600 mg of impure brown foam was obtained. After intensive purification, 148 mg (0.46 mmol, 22%) of the title compound was isolated as a white foam which crystallized out of MeOH acetone. Smp.: 179-180°C.

[eleven illegible lines of formula]

Synthesis example 3

5-chloro-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.
1.46 g (5.46 mmol) of 5'-O-propionyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyureidine was converted in a yield of 81% to 5'-O-propionyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine with the help of triazole and 0-chlorophenyl dichlorophosphate, according to the

Page 5/

method of Sung for conversion of uridine derivatives to cytidine ones. Compare W. L. Sung, J. Org. Chem. 47, 3623-3628 (1982).
UV (MeOH) λ_{\max} 271 and 237 nm.

Reaction with benzoic acid anhydride in anhydrous pyridine gave the N-benzoilized product in a 93% yield. UV (MeOH) λ_{\max} 261 and 304 nm.

The protected nucleoside analog was treated for 30 minutes in pyridine at 100°C with 1.5 equivalents of N-chloro-succinimide. Intensive refining produced 38% of the 5-chloro product in addition to 21% reclaimed material. UV (MeOH) λ_{\max} 261 and 331 nm.

Deprotection with methanol saturated with ammonia finally produced 62% of the title product which crystallized out of methanol diethylether. Smp.: 144-145°C.

[nine illegible lines of formula]

In tests which led to the invention, it was found that the compounds from synthesis examples 1, 2, and 3 are able to inhibit the cytopathogenicity of HIV-1 in MT-4 cells in a 50% effective dose (ED₅₀) of 9 μ M, 14 μ M and 15 μ M respectively. They are almost as active against the replication of HIV-2. Furthermore, the compounds of synthesis examples 1 and 2 are barely poisonous to the MT-4 cells, so that they have a high selectivity index, as good as or even better than that of 2',3'-dideoxycytidine.

In tests of the ability to counter the transformation caused by the Moloney murine sarcoma virus (MSV) of murine C3H/3T3 fibroblasts, it

appeared that none of the derivatives

Page 6/

from the synthesis examples showed any antiviral activities in concentrations to 1000 μM . This as opposed to azidothymidine which is an efficient inhibitor of MSV ($\text{ED}_{50}=0.027\mu\text{M}$) and to 2',3'-dideoxycytidine which has an ED_{50} of $10\mu\text{M}$. Nonetheless it is assumed that the said derivatives have sufficient antiviral activity against human retroviruses which infect human cells.

On the basis of these data, the said compounds are usable in medications against AIDS and AIDS-related diseases and in general in medications against retrovirus infections including hepatitis B.

Therapeutic preparations which contain any of the invented compounds as an active ingredient for the treatment of retrovirus infections, such as AIDS or AIDS-related diseases in human practice, can take the form of powders, suspensions, solutions, sprays, emulsions, salves or creams and can be used for local intranasal, rectal, and vaginal administration, as well as for oral or parenteral (intravenous, intradermal, intramuscular, intrathecal, etc.) administration. Such preparations can be obtained by combining the active compounds (e.g. by mixing, dissolving, etc.) with pharmaceutically acceptable neutral excipients (such as hydrous or anhydrous solvents, stabilizers, emulsifiers, detergents, additives) and further, if desired, with pigments and aromatic substances. The concentration of the active ingredient in the therapeutic preparation can vary strongly between 0.1% and 100%, depending on the manner of administration. The dose of the active ingredient to be administered can vary between 0.1 mg and 100 mg per kilogram of body weight.

The anti-HIV properties of the 5-halogeno-2',3'-dideoxycytidine derivatives according to the invention are documented by the following examples, which should not be read in a limiting sense. In them, 2',3'-dideoxycytidine and 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine are used for comparison.

Page 7/

The viruses used in the examples were HIV-1 and HIV-2, respectively obtained from the growth liquid of H9 cells sustainedly infected with HIV-1 and from the growth liquid of CEM cells sustainedly infected with HIV-2. Further, use was made of Moloney murine sarcoma virus (MSV), prepared from tumors which were caused by infection in vivo with three-day-old NMRI mice (compare De Clercq et al, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137, 590-594, 1971).

The cells used in the examples were MT-4 cells as described by I. Miyoshi et al, Gann Monogr. 28, 219-218[sic] (1982). These cells were grown in a culture medium consisting of RPMI-1640 medium, supplemented with 20 mM Hepes buffer, 10% (v/v) inactivated fetal calf serum and 2 mM glutamine. This RPMI-1640 medium is a standard medium which contains anorganic salts such as NaCl, NaHCO_3 , Na_2HPO_4 , etc., as well as glucose, various amino acids and various vitamins.

Five different chemicals were used as test compounds, i.e.:
 AzddClCyd: 5-chloro-3'-azido-2',3',-dideoxycytidine,
 FddClCyd: 5-chloro-3'-fluoro-2',3',-dideoxycytidine,
 D4ClC: 5-chloro-2',3'-didehydro-2',3',-dideoxycytidine,
 ddCyd: 2',3',-dideoxycytidine,
 AzddThd: 3'-azido-2',3',-dideoxythymidine.

Example 1

Inhibiting of the cytopathogenic action of HIV-1.

The test compounds were valued on their inhibiting effect on the cytopathogenic action of HIV-1 in MT-4 cells.

In a first series of tests, MT-4 cells (5×10^5 cells/ml) were suspended in a fresh growth medium consisting of RPMI-1640 medium with, in addition to the named additions, also 0.075% (w/v) NaHCO_3 , 2.5 $\mu\text{g/ml}$ Fungizone (Squibb N.V.). The suspension was infected with a cell suspension of 200 CCID₅₀ of HIV-1 per mm (1 CCID₅₀ is the infective dose for 50% of the cell cultivation). Immediately after the infection,

Page 8/

100 μl portions of the cell suspension were combined in the cavities of a test plate with 100 μl portions of appropriate dilutions of the test compounds. In this way, each cavity of 200 μl contained 20 CCID₅₀ of HIV and 5×10^4 MT-4 cells. After five days of incubating in 37°C in a humid atmosphere with control of the CO₂ content, the viable cells were counted.

A second series of tests, parallel to the first, was performed with non-infected cell cultures, which were incubated in the presence of different concentrations of the test compounds. Here also, the number of viable cells was counted afterwards. From the values found, the 50% effective dose (ED₅₀) and the 50% cytotoxic dose (CD₅₀) were calculated, that is to say, the concentrations of test compounds necessary to reduce by 50% the number of viable cells in the virus-infected and non-infected cell cultures respectively.

The results are reflected in table 1.

Compound	ED ₅₀	CD ₅₀
AzddClCyd	9	923
FddClCyd	14	1000
D4ClC	15	170
ddCyd	0.27	39
AzddThd	0.002	5.2

From the table, it is apparent that the three compounds from the synthesis examples 1-3 have a value for ED₅₀ of 9 μM , 14 μM and 15 μM respectively. Two of the three compounds have, furthermore, an extremely low toxicity (high value of CD₅₀) so that their therapeutic index will be just as great as ddCyd or even better.

Tests with HIV-2 showed the same picture.

Page 9/

Example 2

Effect of various additions on the anti-HIV action.

The tests from example 1 were repeated in the presence of various additions, after which the effect of these additions was determined.

In a first series of tests, MT-4 cells (10^6 cells per ml) were suspended in a fresh culture medium such as the one named in example 1. The suspension was infected with a cell suspension of 200 CCID₅₀ of HIV-1 per ml. Afterwards, 50 μ l portions of the infected cell suspension were brought together in the cavities of a test plate with 100 μ l portions of an appropriate dilution of a test compound and 50 μ l portions of a medium which contained certain additions. After five days of incubating in 37°C in a humid atmosphere with control of the CO₂ content, viable cells were counted.

A second series of tests, parallel to the first, was performed with non-infected cell cultures. Here also, the number of viable cells was counted afterwards. From the values found, the values of ED₅₀ and CD₅₀ 50 were calculated, in the same manner as in example 1.

The additions used were:

dCyd 2'-deoxycytidine
dThd 2'-deoxythymidine
THU tetrahydrouridine
dTHU 2'-deoxytetrahydrouridine

The results, together with those of example 1, are stated in table 2.

Page 10/

Table 2

Compound	Addition	ED ₅₀ (μ M)	CD ₅₀ (μ M)
AzddClCyd	None	9	923
	dCyd (1mM)	>500	>500
	dThd (250 μ M) + dCyd (1mM)	≥500	>500
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	≥500	>500
	dCyd (1mM) + THU (250 μ g/ml) + +dTHU (250 μ g/ml).	>500	>500
FddClCyd	None	14	>1000
	dCyd (1mM)	>500	>500
	dThd (250 μ M) + dCyd (1mM)	249	>500
	THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	248	>500
	dCyd (1mM) + THU (250 μ g/ml) + dTHU (250 μ g/ml)	>500	>500

D4C1C	None	15	170
	dCyd (1mM)	>100	223
	dThd (250µM) + dCyd (1mM)	>100	211
	THU (250µg/ml) + dTHU (250 µg/ml)	>100	220
	dCyd (1mM) + THU (250µg/ml) +	>100	213
	dTHU (250µg/ml)		
ddCyd	None	0.27	39
	dCyd (1mM)	56	>500
	dThd (250µM) + dCyd (1mM)	14	>500
	THU (250µg/ml) + dTHU (250 µg/l)	14	>500
	dCyd (1mM) + THU (250µg/ml) +	424	>500
	dTHU (250µg/ml)		
AzddThd	None	0.002	5.2
	dCyd (1mM)	0.07	>>100
	dThd (250µM) + dCyd (1mM)	0.7	>>100
	THU (250µg/ml) + dTHU (250 µg/ml)	0.002	4.3
	dCyd (1mM) + THU (250µg/ml) +	0.002	40
	dTHU (250µg/ml)		

Page 11/

From table 2, it is apparent that the addition of 1000 µM of dCyd resulted in a clear decline of the anti-HIV activity of the compounds from synthesis examples 1-3. A similar decline also occurred with addition of THU + dTHU and of dCyd+THU+dTHU.

In this regard, the compounds of the synthesis examples were comparable to ddCyd, or 2',3'-dideoxycytidine. On the other hand, the results are not comparable to those of azidothymidine, where an addition of dCyd or of dCyd + dThd did bring about a decline in anti-HIV activity, but an addition of THU+dTHU or of THU+dTHU+dCyd had no effect.

It further appears that the cytostatic activity of the compounds from synthesis examples 1 and 2 was reduced considerably by the additions, just as with 2',3'-dideoxycytidine, while the compound of synthesis example 3 shows a deviating behavior here.

Example 3

Inhibition of Moloney murine sarcoma virus (MSV)

The test compounds were valued on their inhibiting effect on the transformation of C3H mouse-embryo fibroblasts by Moloney murine sarcoma virus (MSV).

C3H cells were introduced in a dose of 20000 cells per ml into the cavities of a 48-cavity test plate. After 24 hours, the cell cultures were infected with 80 focus-forming units of MSV and 120 minutes later, the culture medium was replaced by 1 ml of fresh medium that contained various concentrations of test compounds. After six days, the transformation of the cell cultures was observed microscopically.

From the tests, it appeared that none of the compounds from synthesis examples 1-3 showed any antiviral action in concentrations to 1000 μ M. On the other hand, the transformation was effectively inhibited by AzddThd ($ED_{50}=0.027\mu M$) while ddCyd showed an ED_{50} of 10 μ M.

Page 12/

C L A I M S

1. Compound chosen from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.

2. 5-chloro-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine.

3. 5-chloro-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine.

4. 5-chloro-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine.

5. Pharmaceutical preparation for use in the treatment of retrovirus infections, which preparation includes a compound from the group 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine as active ingredient.

6. Pharmaceutical preparation according to claim 5, which preparation contains the active ingredient in a concentration between approximately 0.1 and approximately 100 % by weight.

7. Pharmaceutical preparation according to claim 5, which preparation has the form of a powder, suspension, solution, spray, emulsion, salve or cream.

8. Pharmaceutical preparation for use in the treatment of AIDS or AIDS-related diseases which preparation contains a compound from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine as active ingredient.

9. Pharmaceutical preparation according to claim 8, which preparation contains the active ingredient in a concentration between approximately 0.1 and approximately 100 % by weight.

10. Pharmaceutical preparation according to claim 8, which preparation has the form of a powder, suspension, solution, spray, emulsion, salve or cream.

11. Method for the treatment of retrovirus infections which consists of one's administering a compound from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine to a patient suffering from a retrovirus infection.

12. Method for the treatment of AIDS or AIDS-related diseases which consists of one's administering a compound from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine to a patient suffering from AIDS or an AIDS-related disease.

13. Application of a compound chosen from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine for the preparation of a pharmaceutical preparation against retrovirus infections and hepatitis B.

14. Application of a compound chosen from the group of 5-halogeno-3'-azido-2',3'-dideoxycytidine, 5-halogeno-3'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine, and 5-halogeno-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine for the preparation of a pharmaceutical preparation against AIDS and AIDS-related diseases.
